

フィリピンのアンキアリン洞窟短尾類甲殻類の多様性と生物地理

2007年9月 自然環境学専攻 56868 ダニエル エディソン フサナ

指導教官 小島茂明 准教授

キーワード：アンキアリン洞窟、洞窟性カニ類、種多様性、分類、生物地理、洞窟保全

1. はじめに

アンキアリン (anchialine: グリシャ語で‘海岸に近接する’を意味する) 洞窟とは、地下で外海に繋がった海岸に近接する洞窟で、汽水で満たされ、外海の潮汐の影響を受ける洞窟である。アンキアリン洞窟からはムカシエビなど、高次の新分類群が多数発見され、起源の古い生物が多い。アンキアリン洞窟の生物の多くは、特定の洞窟に分布が限られたため、水の汚染や他の僅かな環境破壊によって容易に絶滅する。フィリピン群島には多くのアンキアリン洞窟があるが、人類活動によりその多くは既に破壊されていると思われる。この研究の目的は、1) フィリピンのアンキアリン洞窟の甲殻類、特に短尾亜目甲殻類の種多様性を明らかにすること、2) *Discoplax gracilipes* を例に、アンキアリン洞窟生物の分散のメカニズムを明らかにすること、そして3) これらの研究から、フィリピンのアンキアリン洞窟とそこに生息する生物の保全に関する示唆を与えることである。

2. 試料と研究方法

フィリピン群島の41、グアム島の2つのアンキアリン洞窟から短尾亜目甲殻類を網羅的に採取し、分類学的検討を行った。そのうち、*D. gracilipes* 55個体、*D. longipes* 5個体、*D. rotunda* 2個体、*D. hirtipes* 2個体、*Gecarcoidea lalandii* 2個体の合計66個体を対象に、分子系統解析を行なった。全DNAを抽出した後、ミトコンドリアDNAのCOI領域の部分長塩基配列を決定した。その後、近隣結合法と最節約法、そしてベイズ法で系統樹を作成した。また、フィリピン内での*D. gracilipes*の集団構造とその歴史を明らかにするためにExact test、*Fst* 値の有意性の検定および mismatch distribution 解析を行なった。

3. 結果と議論

本研究の結果、短尾亜目ヤワラガニ科、オカガニ科、イワガニ科に所属する9種を識別した。これらは *Cancrocaecoides samarensis*、*Discoplax gracilipes*、*D. hirtipes*、*D. rotunda*、*Cardisoma carnifex*、*Gecarcoidea lalandii*、*Sesarmoides ultrapes*、*S. boholano* と *Orcovita fictilia* である。これらの種の中で *C. samarensis*、*S. ultrapes*、*S. boholano* と *O. fictilia* は真洞窟性種 (obligate troglobite)、*D. gracilipes* は主に洞窟に生息し、時折地上に現れる種 (facultative troglobite) である。*C. samarensis*

は新属新種で、ヤワラガニ科では初めてのアンキアリン洞窟性種で、短尾亜目では初の洞窟適応種であることが明らかとなった。*S. ultrapes* はフィリピン初記録であり、模式地のソロモン諸島から 4000 km も離れた地点からの発見である。さらに、フィリピン産アンキアリン洞窟からの種は、これまでには一つの洞窟あるいは洞窟系に分布が限られると考えられていたが、本研究の結果、それらのいくつかの種はフィリピン群島に広く分布することが明らかとなった。

COI 658bp に基づく分子系統解析の結果、*Discoplax* 属内の種の単系統性が高い統計的信頼性で支持された(図 1)。また、*Discoplax* 属は 2 つの大きなクレードで構成されており、これらのクレードはそれぞれ表層性の *D. rotundum* と *D. hiritipes*、洞窟性種の *D. gracilipes* と *D. longipes* からなることが判明した。これまでに報告されているエビや一般的な節足動物の分子進化速度に当てはめると、洞窟性種の *D. gracilipes* と *D. longipes* の分岐は約 84 万年前、さらに洞窟性種と表層性種の間での分岐は約 561 万年前と推定された。Exact test、*Fst* 値の有意性の検定および mismatch distribution 解析の結果、フィリピンに分布する *D. gracilipes* の地域集団間の高頻度の遺伝的交流と比較的最近の急激な集団の拡大が示唆された。このことから、*D. gracilipes* のフィリピンでの分布は active migration model で説明でき、本種はアンキアリン洞窟という特殊な環境に生息しているにも関わらず、フィリピン内で幅広く分散できると考えられる。

アンキアリン洞窟は脆弱な環境で、そこに生息する生物は僅かな環境汚染でも容易に絶滅する。本研究の結果は、このような洞窟の保全についての指針を与えるものである。つまり、*D. gracilipes* のように浮遊幼生を海に放出して分布を広げる種は、一度環境が破壊された洞窟でも再度環境が戻れば、そこに生息が可能となる。しかし一方、アンキアリン洞窟の多くの生物の発生様式は卵胎生で、しかも分布が特定の洞窟に限られるため、生息する洞窟の環境破壊はその種の生存にとって致命的となる。アンキアリン洞窟の生物は、地上の生物に比べて多様性が低く、そのため、特にフィリピンでは、その存在を認識されることは皆無である。今後は、このような地下に潜む生物群について、洞窟の近隣住民に対する教育・普及が重要である。

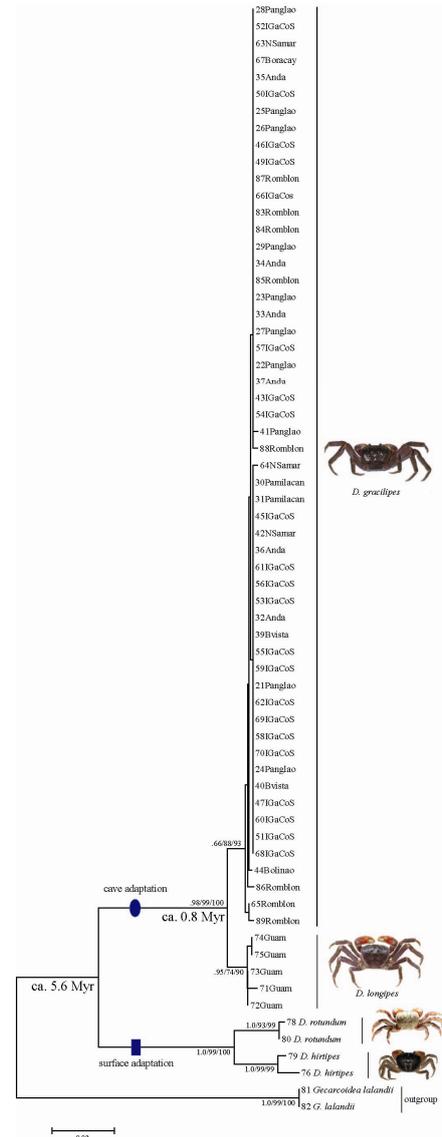


図 1. COI ミトコンドリア遺伝子の部分長塩基配列(658 bp)に基づく近隣結合系統樹。事後確率は 1,000 回の試行、最節約法および近隣結合法は 10,000 回の試行によって算出した。分岐年代は各ノードの下に示している。

Biodiversity and biogeography of brachyuran crabs from the anchialine caves in the Philippines

Sept., 2007, Course of Natural Environmental Studies

Daniel Edison Husana 56868

Supervisor: Assoc. Prof. Shigeaki Kojima

Keywords: Anchialine cave, cavernicolous crab, species diversity, taxonomy, biogeography, cave conservation

Introduction

Anchialine (from Greek meaning 'near the sea') caves are tidally fluctuated, subterranean brackish-water environments connected to the sea with interstitial subterranean passages. These caves are inhabited by a diverse array of previously unknown species from a number of new higher taxa like remipedes. Since such anchialine cave animals are frequently limited to a single cave or cave system, pollution or destruction of these caves can result in the extinction of entire species. The Philippine archipelago has a number of anchialine caves, many caves are believed to have been destroyed due to anthropogenic activities. The purpose of this study is to (1) clarify the biodiversity of anchialine cave fauna, particularly on decapod crustaceans, (2) study the dispersal mechanisms of anchialine cave animals by examining molecular analysis for the cavernicolous crab, *Discoplax gracilipes*, as a case study, and (3) provide information for the conservation of anchialine cave and cavernicolous fauna in the Philippines.

Materials and methods

From a total of 41 caves in different islands of the Philippines and Guam, I extensively collected brachyuran crabs and studied them taxonomically. The specimens were preserved and identified after tissue samples were isolated. I determined COI gene from the 66 tissue samples obtained from *D. gracilipes* (55), *D. longipes* (5), *D. rotunda* (2), *D. hirtipes* (2) and *Gecarcoidea lalandii* (2). DNA extraction, PCR amplification and DNA sequencing was conducted, and then aligned data were analyzed to obtain topologies using MEGA v.3.1 and MrBayes v.3.1 softwares. The exact test, the test of significance of *Fst* value and mismatch distribution analysis were implemented using Arlequin v.3.11 software for population heterogeneity.

Results and discussion

A total of nine brachyuran crab species belonging to Hymenosomatidae, Gecarcinidae and Grapsidae were identified in anchialine caves in the Philippines. These are *Cancrocaecoides samarensis*, *Discoplax gracilipes*, *D. hirtipes*, *D. rotunda*, *Cardisoma carnifex*, *Gecarcoidea lalandii*, *Sesarmoides ultrapes*, *S. boholano* and *Orcovita fictilia*, of which *C. samarensis*, *S. ultrapes*, and *O. fictilia* are obligate troglobites and *D. gracilipes* and *S. boholano* are facultative troglobite. *C. samarensis* is a new genus and species and represents the first

anchialine cave species in the Hymenosomatidae and the first brachyuran species with true troglotic morphologies in this habitat. *S. ultrapes* is the first record in the Philippine archipelago, separating ca. 4,000 km apart from the type locality in the Solomon Islands. This study shows that the anchialine cave crabs were distributed widely in separated islands, although many of those species were previously recorded only in a single cave or cave system.

Molecular phylogenetic trees based on nucleotide sequences of 658 base pairs of CO1 region of mitochondrial gene (Figure 1) shows clear monophyly of each of the species within the genus *Discoplax* as supported by high bootstrap probabilities for the NJ, MP and Bayesian analyses. The genus comprises two major clades. They are: 1) a clade consisted of *D. rotundum* and *D. hirtipes* inhabiting the surface of the land; and 2) a clade consisted of cavernicolous crabs, *D. gracilipes* and *D. longipes*. The divergence age of the two cavernicolous crabs *D. longipes* and *D. gracilipes* was estimated to be 0.71–0.97 Mya (ca. 0.84 Myr; middle Pleistocene) and that of the two anchialine-cave species from the ancestral epigean ancestor to be 4.77–6.45 Mya (ca. 5.61 Myr; Miocene/Pliocene boundary) based on the CO1 mutation rates of 1.7% per million years in the snapping shrimp and 2.3% for arthropoda in general. The results of the exact test and the test of significance of *Fst* value showed high gene flow among local populations and the mismatch distribution analysis suggested a recent sudden expansion of the Philippine population of *D. gracilipes*. The present results showed that *D. gracilipes* can disperse widely within the Philippine archipelago even though this species inhabits the unusual habitat—the anchialine caves and supported active migration model for the insular distribution of *D. gracilipes* in the Philippine archipelago.

Cave ecosystems are fragile habitats and easily threatened even with small disturbance. Like *D. gracilipes*, animals with planktotrophic marine larvae capable of long distance migration might not be highly affected by such disturbance because these species could come back and thrive again in caves if the environment recovered again. On the other hand, most stygobites with ovoviviparous development endemic to a single cave system, like the case of *C. samarensis*, will cause their extinction. Although the biodiversity of anchialine caves is not high compared with that in surface ecosystems, it is worth reiterating not to neglect this unique underground ecosystem and to give attention for the conservation. Educating the local people with regards to the importance of this habitat is highly recommended, it is the best tool for the sound management and proper conservation of the cave ecosystem before it's too late.

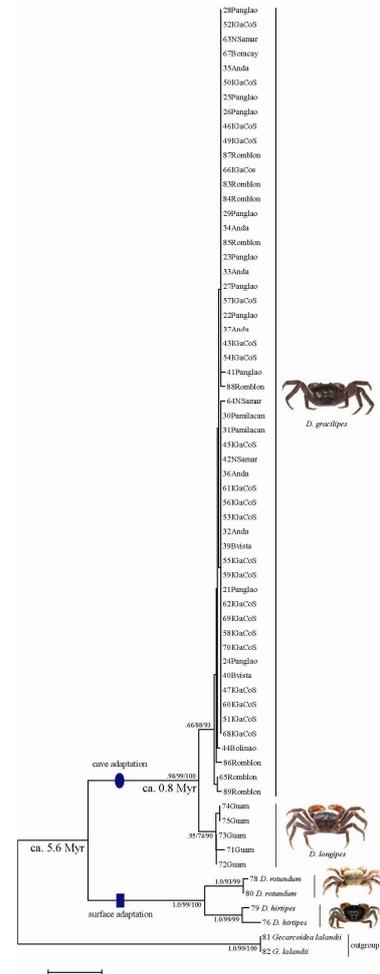


Fig. 1. Neighbor-joining (NJ) phylogram based on the 658bp DNA sequences of COI genes with estimated divergent time for the genus *Discoplax*. Numbers in nodes denote posterior probabilities in Bayesian analysis and bootstrap values in MP and NJ analyses based on 1,000 and 10,000 replicates, respectively.